

## Contenido en isómeros geométricos de los ácidos grasos en helados comerciales españoles

Por V. Griguol<sup>1</sup>, I.M. Vicario<sup>1</sup> y M. León<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Área de Nutrición y Bromatología. Facultad de Farmacia.  
C/ P. García González s/n. 41012 Sevilla.

<sup>2</sup>Instituto de la Grasa. CSIC. Sevilla

### RESUMEN

#### Contenido en isómeros geométricos de los ácidos grasos en helados comerciales españoles.

Ocho muestras de distintas variedades de helados comercializados en España han sido analizadas para determinar su contenido en ácidos grasos de cadena media y larga, con especial interés en el contenido en ácidos grasos *trans*. La fracción mayoritaria en todos los casos, está constituida por los ácidos grasos saturados, que presentan un valor medio del 68,1%, seguido de la fracción de monoinsaturados (media=21,1%) y poliinsaturados (media=5,1%). El contenido en ácidos grasos *trans*, detectado en todas las muestras, oscila entre 0,5%-19%, con un valor medio de 5,7%. El análisis estadístico (análisis cluster) realizado, basándonos en el contenido en ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y *trans*, ha permitido diferenciar tres grupos distintos de helados según la fuente de grasa mayoritaria empleada en su elaboración.

**PALABRAS-CLAVE:** Ácidos grasos *trans* – Cromatografía de gases – Helados.

### SUMMARY

#### Isomeric fatty acid composition of spanish commercial ice-creams .

Eight samples of different varieties of commercial ice-creams sold in Spain were analysed for their fatty acid composition, with relevance on their *trans*-fatty acid profile. Saturated fatty acids occurred in the largest proportions in all samples (mean = 68,1%), followed by monounsaturated (mean=21,1%) and polyunsaturated fatty acids (mean=5,2%). *Trans* fatty acids were detected in all samples ranging from 0,5%-19%, mean value 5,7%. Statistical analysis (cluster analysis) based on their fatty acid profile (saturated, monounsaturated and polyunsaturated and *trans* fatty acids) showed three groups of samples, depending on the main source of fat employed.

**KEY-WORDS:** Gas chromatography – Ice-cream – *Trans*-fatty acids.

### 1. INTRODUCCIÓN

Los ácidos grasos que se encuentran en la naturaleza presentan sus dobles enlaces en forma de isómeros *cis*. La presencia de isómeros *trans* es debida fundamentalmente a dos causas: a procesos de hidrogenación biológica en el estómago de los ruminantes, a procesos de hidrogenación catalítica in-

dustrial y a calentamiento de grasas, especialmente durante la refinación de aceites y grasas comestibles. La grasa de la leche tiene de 2 a 5 % de ácidos grasos *trans*, dependiendo de la dieta del rumiante y del tiempo que permanece el alimento en el estómago del animal (Precht, 1995). Por otro lado, los aceites hidrogenados industriales proporcionan cerca del 80 % de ácidos grasos *trans* en nuestra dieta, siendo las margarinas y las grasas industriales las fuentes principales de estos isómeros (Hulshof *et al.*, 1999). Sin embargo, existen diferencias en la distribución de isómeros posicionales del ácido graso *trans* mayoritario, C18:1t, según se trate de grasas lácteas o grasas industriales, siendo el vacénico (C18:1t 11) el mayoritario en las primeras y el elaidico (C18:1t 9) en la segundas (Precht and Molkentin, 1995).

Durante los años 90 la presencia de ácidos grasos *trans* en margarinas suscitó un gran debate y, como consecuencia, la industria alimentaria ha modificado su tecnología para obtener margarinas de mayor plasticidad reduciendo su contenido en ácidos grasos *trans*. Sin embargo, existen otros alimentos que pueden contribuir a la ingesta de ácidos grasos *trans* en la dieta de determinados grupos de población. Este es el caso de los helados, productos de amplio consumo en ciertas épocas del año, y de gran aceptación entre la población infantil. Los helados están constituidos por una mezcla homogénea de diversos ingredientes que es batida y congelada para su consumo (Ministerio de la Presidencia, 1998). Entre sus ingredientes básicos se puede encontrar la leche o grasa láctea (helados convencionales), o bien pueden ser productos modificados preparados con grasas vegetales o aceites vegetales parcialmente hidrogenados, lo que los convierten en una fuente de ácidos grasos *trans* en la dieta, a tener en consideración (Aro *et al.*, 1998).

El consumo de ácidos grasos *trans* se relaciona con un incremento del riesgo de sufrir una enfermedad cardiovascular, debido a su efecto sobre las lipoproteínas plasmáticas. Aunque el riesgo para la salud varía según el isómero posicional (Willett *et al.*, 1993), se ha demostrado que la ingesta de ácidos

grasos *trans* incrementa la concentración del colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad (LDL) de forma similar a como lo hacen las grasas saturadas. También originan una pequeña elevación de la lipoproteína(a) [Lp(a)] (Mensink y Katan, 1990; Mensink *et al.* 1992).

En contraste con otras grasas, los isómeros *trans* disminuyen la concentración del colesterol unido a las lipoproteínas de alta densidad (HDL). Así el incremento que provocan en la relación colesterol-LDL/colesterol-HDL es aproximadamente el doble al originado por las grasas saturadas (de Roos *et al.* 2001).

Basándose en la evidencias científicas existentes, la Administración para Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) ha propuesto la inclusión de los ácidos grasos *trans* en el etiquetado nutricional de aquellos productos que contengan más de 0,5 g de *trans* por ración, y tiene bajo consideración la posibilidad de utilizar como reclamo en el etiquetado "contenido reducido en ácidos grasos *trans*" (Food and Drug Administration, 2000).

El objetivo de este trabajo es analizar el perfil de ácidos grasos de cadena media y cadena larga de los helados y evaluar su calidad nutricional, atendiendo especialmente a su contenido en ácidos grasos *trans*.

## 2. METODOLOGÍA

**Muestras.** Ocho muestras de distintos tipos de helados comercializados en España se seleccionaron entre los de mayor consumo, incluyéndose helados con y sin galleta. Las muestras se podrían clasificar como: helados con galleta, en los que se incluyen helados tipo cucurucho: 4 muestras (H1- H4), helados tipo sándwich: 2 muestras (H5 y H6) y helados convencionales sin galleta, tipo barra y vaso: 2 muestras (H7-H8). Las muestras se analizaron en su forma de consumo habitual, es decir, las que contenían galleta se analizaron incluyendo ésta.

**Extracción de la grasa.** Entre 7 y 4 gramos de muestra, previamente homogeneizada, es utilizada para la extracción de la grasa mediante el método de Folch *et al.* (1957). Se realizan dos extracciones cloroformo/metanol (2:1) y posterior lavado con solución diluida de NaCl. Seguidamente se filtran las fases cloroformicas obtenidas con Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub> anhidro y finalmente se evapora el cloroformo en un evaporador rotatorio de vacío.

**Preparación de ésteres metílicos de los ácidos grasos.** La preparación de los ésteres metílicos (EMAG) se realizó según el método de la IUPAC (1987). A una muestra de aproximadamente 200 mg de extracto graso se le adicionan, en un tubo de 16 x 150 mm provisto de tapón de rosca, 4 mL de metilato sódico 0,5 N y se calienta en un baño de agua a 100°C durante 5-10 minutos, hasta la aparición de una sola fase. Enfriar y añadir 5 mL de BF<sub>3</sub>/Metanol

14 % (Sigma) y se calienta en el baño de agua hirviendo durante 10 minutos. Después de enfriar, se adicionan 2 mL de heptano y se vuelve a hervir 2 minutos más. Una vez frío se añaden 2,5 mL de solución de NaCl al 0,58 % y se agita enérgicamente durante 1 minuto. Esta fase heptánica se transfiere a un tubo que contiene 1 mm de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>. Este método ha resultado especialmente adecuado para la protección de la columna cromatográfica utilizada, ya que trazas de humedad o de ácidos serían muy perjudiciales para la fase estacionaria.

**Análisis cromatográfico.** El análisis se realizó en un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 6890 (Software Chem Station HP G2070AA) provisto de inyector automático "split/splitless" y detector de ionización a la llama. Columna capilar SP 2340 (Palo Alto, CA) de 60 m de longitud y 0,25 mm de diámetro interno. Temperatura del inyector: 225° C, temperatura del detector: 250° C. Programación del horno: 160 °C-13 min, 1,5° C/min hasta 190° C, manteniendo dicha temperatura durante 5 min. El gas portador hidrógeno, con una presión de cabeza de 25 psi; y el gas auxiliar helio con relación de split 1/60. El procesamiento de la señal se efectuó con el software Chem Station HP G2070AA. Los EMAG se identificaron por igualdad de tiempo de retención con el correspondiente patrón. La cuantificación, expresada como % (gramos de ácido graso/100 gramos de alimento), se realizó usando como patrón interno el ácido margárico (C17:0) y calculando los factores de corrección correspondientes a la respuesta del detector. Las muestras se analizaron por duplicado.

**Análisis estadístico.** El análisis estadístico se realizó mediante el programa Statistica® (Statsoft, 1999)

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el análisis de perfil lipídico se muestran en la Tabla I. Dada la metodología analítica utilizada, no es posible estimar los contenidos en ácidos grasos de cadena corta, butírico y caproico (C4:0 y C6:0) presentes en la leche en niveles aproximadamente del 5-6%, sin embargo se optimiza la determinación de los ácidos caprílico (C8:0) y cáprico (C10:0).

El contenido en grasa de las muestras oscila entre el 23,9% y el 9,8%, con un contenido medio del 14,5%. Se observa que la fracción mayoritaria corresponde en todos los casos a los ácidos grasos saturados (AGS), con valores que oscilan del 35% al 83%, predominando en unas muestras (H2-H7) el ácido láurico (C12:0) y en distinta proporción los ácidos mirístico, palmítico y esteárico (C14:0, C16:0 y C18:0), mientras que en otras (H1 y H8) se encuentran en mayor cantidad los ácidos palmítico y esteárico (C16:0 y C18:0). La siguiente fracción cuantitativamente más importante corresponde a los ácidos grasos monoinsaturados (AGMI), con valores

Tabla I

**Contenido en isómeros de ácidos grasos de los helados analizados (media de dos replicados expresados como % (p/p) del total de ácidos grasos identificados). AGS ácidos grasos saturados, AGMI ácidos grasos monoinsaturados, AGPI ácidos grasos poliinsaturados, AGT ácidos grasos trans, AGCIS ácidos grasos cis**

ÁCIDOS GRASOS	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8
C8:0	0,68	4,58	3,99	4,09	2,69	1,26	3,45	0,01
C10:0	1,55	4,46	3,26	3,75	2,94	7,69	3,12	0,05
C12:0	3,15	27,30	28,86	32,80	24,14	14,54	29,70	0,15
C14:0	5,70	13,14	9,78	14,89	14,86	7,66	13,76	4,84
C16:0	26,59	17,74	15,46	13,06	19,83	11,41	13,13	20,23
C18:0	26,44	8,51	20,65	14,11	9,50	11,41	8,49	9,40
C20:0	0,65	0,18	0,48	0,27	0,25	0,37	0,13	0,32
C22:0	ND	0,06	0,12	0,57	1,98	0,43	ND	0,09
C14:1	0,69	0,67	0,12	ND	0,36	ND	0,04	ND
C16:1	0,96	0,85	0,12	0,11	0,76	ND	0,24	0,22
C18:1	30,25	17,61	14,25	13,58	15,68	20,20	21,85	30,04
C18:2	2,49	2,14	2,29	2,43	5,22	4,23	5,37	14,57
C18:3	ND	0,35	0,12	0,10	0,47	0,19	0,02	0,72
C14:1t	0,07	0,07	ND	ND	0,12	ND	0,03	ND
C16:1t	0,04	0,06	ND	ND	0,11	ND	ND	ND
C18:1t	0,27	1,39	0,37	0,16	0,92	18,60	0,58	17,90
C18:2t	0,46	0,87	0,12	0,07	0,16	1,99	0,08	0,89
C18:3t	ND	0,58						
%AGT	0,84	2,40	0,50	0,23	1,31	20,59	0,70	19,36
% AGS	64,79	75,97	82,60	83,54	76,20	54,78	71,79	35,09
% AGMI	31,89	19,14	14,49	13,70	16,80	20,20	22,13	30,26
% AGPI	2,49	2,50	2,42	2,54	5,69	4,42	5,39	15,29
%AGCIS	34,39	21,63	16,91	16,23	22,49	24,63	27,52	45,55
Grasa(g/100g alimento)	17,5	23,9	17,5	9,8	13,7	9,8	12,6	11,3
[AGCIS/ AGS + AGT]	0,52	0,28	0,20	0,19	0,29	0,33	0,38	0,84

que oscilan entre 31% y el 14%. En todos los casos el ácido graso mayoritario de esta fracción es el oleico (C18:1).

La fracción de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) presenta valores que oscilan entre 2% y el 15% y predomina el ácido linoleico (C18:2). En cuanto a la fracción de ácidos grasos *trans* (AGT), se observan cantidades que oscilan entre el 0,2% y el 20%. Como se aprecia en la Tabla I, el ácido graso mayoritario es el C18:1t en todas las muestras, siendo el siguiente isómero *trans* en importancia el C:18:2t. Los isómeros C14:1t y C16:1t no se detectan en todas las muestras, y se presentan en baja proporción (<0,1%). El C18:3t sólo lo detectamos en una muestra de helado (H8) en un 0,58%. Esto se debe, probablemente, a la presencia de aceites vegetales parcialmente hidrogenados en su composición.

En una primera clasificación arbitraria de las muestras, hemos tenido en cuenta la presencia o no de galleta en el helado. Las muestras que contienen galleta (H1-H6), presentan valores medios más altos de AGS que las muestras sin galleta (H7-H8) ( $72,98 \pm 11,15$  vs  $53,44 \pm 25,95$ ) fundamentalmente por contener cantidades más altas de los ácidos grasos láurico o palmítico, lo cual indica la presencia de gra-

sa vegetal de coco o palma en la elaboración de la galleta, aunque también puede relacionarse con la presencia de manteca de cacao en el helado. Tras la aplicación de un análisis de la varianza se detectan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre ambos grupos para el contenido en AGPI ( $3,34 \pm 1,39$  vs  $10,34 \pm 7,00$ ), aunque no se detectan diferencias significativas respecto al contenido en AGT ( $4,31 \pm 8,01$  vs  $10,00 \pm 13,20$ ) o AGMI ( $6,64 \pm 3,34$  vs  $5,75 \pm 10,34$ ).

En un intento de clasificar las muestras utilizando como variables de agrupación los porcentajes de las distintas fracciones de ácidos grasos (AGS, AGMI, AGPI, AGT), se aplica un análisis cluster mediante el método de amalgamamiento completo o "vecinos" más alejados. Como se observa en la Figura 1, se pueden distinguir claramente dos grupos de helados. Un primer grupo, a un 25% de distancia de amalgamamiento, está formado por las muestras H6 y H8 (Grupo 1). Según su composición podrían considerarse *helados con alto contenido en trans y bajo contenido en grasa saturada*. En la Tabla II se muestran los valores medios de las distintas fracciones de ácidos grasos para los distintos grupos. Los helados englobados en el grupo 1, están elaborados con predominio de aceites vegetales parcialmente hidrogenados lo que origina un mayor contenido AGT y un

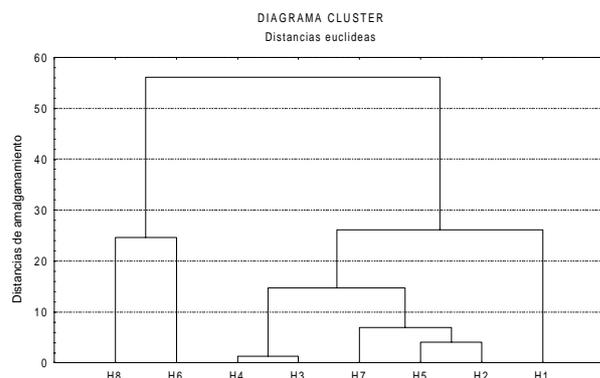


Figura 1

Representación del análisis cluster, realizado utilizando como variables de agrupación los porcentajes relativos de ácidos grasos saturados, ácidos grasos mono insaturados, ácidos grasos poliinsaturados y ácidos grasos *trans*.

menor contenido en AGS y un contenido apreciable en ácidos grasos cis insaturados (AGCIS).

En un segundo grupo, con distancias de amalgamamiento similares (26%) aparecen agrupadas el resto de las muestras, a las que podríamos considerar *helados con bajo contenido en trans y alto contenido en grasa saturada*. A su vez, dentro de éste grupo se pueden considerar dos subgrupos: el formado por las muestras H4 y H3 (Grupo 2), con distancias de amalgamamiento por debajo del 5% y por otro lado las muestras H5, H2 y H7 con distancias de amalgamamiento inferiores al 10% (Grupo 3). El grupo 2 incluye helados fabricados con predominio de grasas vegetales de coco y palma y por lo tanto presentan cantidades elevadas de AGS, sobre todo de C12:0 y bajo contenido en AGCIS y AGT.

El Grupo 3, corresponde a los helados elaborados con mezcla de grasas lácteas y vegetales e incluye aquellos helados que por su perfil lipídico no se ajustan al de una grasa láctea, ni a ninguno de los tipos anteriores, teniendo cantidades intermedias de AGS, AGT y AGCIS. En estos helados la presencia de grasa vegetal se debe, probablemente, a la com-

posición de la galleta que contienen. Aunque la incluimos en el Grupo 3, la muestra H1 es ligeramente distinta, y presenta un mayor contenido en AGCIS y un menor contenido en AGS, lo que puede deberse a una mayor contribución de la grasa láctea y a la presencia de aceite vegetal en la elaboración de la galleta.

Tras realizar los correspondientes análisis de la varianza para las variables: AGS, AGT y AGCIS (Tabla II), y considerando las muestras separadas en 3 grupos (Grupo 1: Grasa vegetal hidrogenada, Grupo 2: Grasa vegetal y Grupo 3: Grupo mezcla de grasa vegetal y láctea), se aprecian diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ) en el contenido de AGS y ácidos AGT del Grupo 1 respecto al Grupo 2 y Grupo 3, no en el contenido de AGCIS lo que confirma los resultados obtenidos en el análisis cluster.

Aunque en la actualidad no existen recomendaciones sobre los niveles de ingesta máximos para los AGT, los estudios realizados en la última década (Willet et al., 1993; Mensink and Katan, 1990) sugieren la necesidad de reducir la ingesta de AGS y AGT y aumentar el consumo de AGPI (fundamentalmente de ácidos grasos de la familia n-3) y AGMI. La recomendaciones actuales son, que la ingesta de grasa no suponga más del 30-35% del total de ingesta energética, distribuida en <7% en forma de AGS, 10-15% en forma de AGMI y <7% en forma de AGPI (Sociedad Española de Arteriosclerosis, 2001). En este sentido, se emplean índices para valorar la calidad nutricional de las grasas comestibles que, siguiendo esta tendencia, en los últimos años se han modificado para incluir los AGT junto a los AGS [AGPI + AGMI/AGS + AGT] (Alonso et al., 2000). Estos índices se han empleado para evaluar la calidad nutricional de las margarinas, obteniéndose valores que superan 1,5 (Alonso et al., 2000, Griguol et al., 2001). Si aplicamos este índice a los helados, observamos que en ningún caso superan la unidad, siendo más elevados en la muestra H8, clasificada como de alto contenido en *trans*, pero que al contener aceites vegetales hidrogenados, reduce el contenido en saturados y aumenta el contenido en AGCIS. En segundo lugar se encuentra la muestra elaborada

Tabla II

**Contenidos medio de las fracciones nutricionales de los grupos de helados obtenidos tras el análisis cluster. AGS ácidos grasos saturados, AGCIS ácidos grasos cis, AGT ácidos grasos *trans***

Muestras	AGS	AGCIS	AGT	Tipo de helado
H6, H8	44,94 ± 13,92 <sup>a</sup>	35,10 ± 4,79	19,98 ± 0,62 <sup>a</sup>	Grupo 1. Helados alto trans
H3, H4	83,10 ± 0,66 <sup>b</sup>	16,57 ± 0,47	0,36 ± 0,19 <sup>b</sup>	Grupo 2. Helados bajo trans
H7, H1, H2, H5	72,18 ± 5,34 <sup>b</sup>	26,51 ± 5,86	1,31 ± 0,77 <sup>b</sup>	Grupo 3. Helados mezcla grasa vegetal y láctea

a, b los valores medios representados en columna presentan diferencias estadísticamente significativas para  $p < 0,05$

mayoritariamente con grasa láctea (H1). Según este índice las muestras elaboradas con grasa vegetal tendrían una peor valoración nutricional que los helados elaborados con aceites vegetales hidrogenados, resultando de un valor nutricional intermedio, en relación a su perfil lipídico los elaborados, mayoritariamente, con grasa láctea.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aro, A., Antoine, J.M., Pizof, van Erp-Baart, M.A., Kafatos, A., Leth, T. y van Poppel, G. (1998) Trans fatty acids in dietary fats and oils from 14 european countries: the TRANSFAIR study. *J. Food Comp. Anal.* 11, 137-149.
- Alonso, L., Fraga F. J., Juárez, M. (2000). Determination of trans fatty acids and fatty acid profiles in margarines marketed in Spain, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 77(2):131-136.
- de Roos, N. M., Bots, M L., Katan, M B. (2001). Replacement of dietary saturated fatty acids by *trans* fatty acids lowers serum HDL cholesterol and impairs endothelial function in healthy men and women. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 21(7), 1233-1237.
- Folch, J., Lees, M. Stanley SGH (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues *J. Biol. Chem.* 226, 497-509.
- Griguol, V., Vicario, I.M., León, M. (2001). Perfil lipídico de margarinas vegetales, incluidos los ácidos grasos *trans*. I Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Libro de resúmenes pag. 138.
- Hulshof, K F; van Erp-Baart, M A; Anttolainen, M; Becker, W; Church, S M; Couet, C; Hermann-Kunz, E; Kesteloot, H; Leth, T; Martins, I; Moreiras, O; Moschandreas, J; Pizzoferrato, L; Rimestad, A H; Thorgeirsdottir, H; van Amelsvoort, J M; Aro, A; Kafatos, A G; Lanzmann-Petithory, D; van Poppel, G. (1999) Intake of fatty acids in western Europe with emphasis on trans fatty acids: the TRANSFAIR Study. *European Journal of Clinical Nutrition* 538 (2), 143-157
- Mensink, R.P. y Katan, M.B.(1990). Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects. *N. Engl. J.Med.* 323, 439-445.
- Mensink, R.P., Zock, P.L., Katan, M.B., Hornstra, G. (1992) . Effect of dietary cis and trans fatty acids on serum lipoprotein(a) levels in humans. *J. Lipid. Res.* 33 (10) 1493-1501.
- Ministerio de la Presidencia (1998). Real Decreto núm. 618/1998 por el que se aprueba la Reglamentación técnico-sanitaria para la elaboración, circulación y comercio de helados y mezclas envasadas para congelar. BOE 28-4-1998, núm. 101, pág. 14113.
- Precht, D. (1995) Variation of *trans* fatty acids in milk fats. *Z. Ernährungswiss* 34, 27-29.
- Precht, D; Molкетин, J. (1995) Trans fatty acids: implications for health, analytical methods, incidence in edible fats and intake (a review), *Die Nahrung*, Volume 39, Issue 5-6, 343-374.
- Food and Drug Administration (EEUU). Department of Health and Human Services (2000). Food Labeling: Trans Fatty Acids in Nutrition Labeling, Nutrient Content Claims, and Health Claims; Reopening of the Comment Period. Federal Register: Volume 65, Number 234, 75887-75888. Disponible en <http://www.cfsan.fda.gov/~lrd/fr00125a.html>.
- Sociedad Española de Arteriosclerosis (2001). Dieta y enfermedades cardiovasculares. Recomendaciones de la Sociedad Española de Arteriosclerosis Disponible en [http:// www.searteriosclerosis.org/](http://www.searteriosclerosis.org/)
- Willett, W C; Stampfer, M J; Manson, J E; Colditz, G A; Speizer, F E; Rosner, B A; Sampson, L A; Hennekens, C H (1993). Intake of trans fatty acids and risk of coronary heart disease among women, *Lancet*, Volume 341, 581-585.
- Statsoft, Inc. (1999) Statistica for Windows v. 5.5 Statsoft, Inc. Tulsa O.K.

Recibido: Enero 2002  
 Aceptado: Mayo 2002